



# Ministero delle Attività Produttive

*Direzione Generale per lo Sviluppo Produttivo e la Competitività*

*Ufficio Italiano Brevetti e Marchi*

*Ufficio G2*



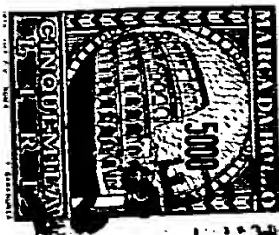
Autenticazione di copia di documenti relativi al brevetto per: **INVENZIONE INDUSTRIALE**  
N. 1304708 rilasciato il 29.03.2001 (domanda n.FI 1998 A 000195).

Si dichiara che l'unità copia è conforme ai documenti originali  
conservati dall'ufficio.

05 GEN. 2005

IL FUNZIONARIO

Giampietro Carlotto



MINISTERO DELL'INDUSTRIA DEL COMMERCIO E DELL'ARTIGIANATO  
ALIANZA BREVETTI E MARCHI - ROMA  
DI BREVETTO PER INVENZIONE INDUSTRIALE, DEPOSITO RISERVE, ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO

MODULO A

marca  
da  
bollo

N.G.  
PF

TE (I)

zione

enza

minazione

enza

VIVIANI VIVIANO

Campinas - SAN PAOLO (Brasile) Rua Marina V.C.  
Mesquita 663

codice VVN VVN 35T01F5510

codice

PRESENTANTE DEL RICHIEDENTE PRESSO L'U.I.B.M.

cognome e nome

cod. fiscale

denominazione studio di appartenenza

via

n.

città

cap

(prov)

C. DOMICILIO ELETTIVO destinatario

VIVIANI VIVIANO c/o RAVARA

via Dora Riparia

n.

2

città

MILANO

cap

(prov)

MI

D. TITOLO

classe proposta (sez/cl/scl)

gruppo/sottogruppo

Clonazione di geni (cDNA) che codificano le luciferasi in grado di produrre la  
bioluminescenza verde del Phixotrix viviani e la bioluminescenza rossa del  
Phixotrix hirtus

ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO: SI NO ☒

SE ISTANZA: DATA

N° PROTOCOLLO

E. INVENTORI DESIGNATI

cognome nome

cognome nome

1) Viviani Vadim

3)

2)

4)

F. PRIORITÀ

nazione o organizzazione

tipo di priorità

numero di domanda

data di deposito

allegato  
S/R

SCIoglimento RISERVE

Data

N° Protocollo

1)

2)

G. CENTRO ABILITATO DI RACCOLTA COLTURE DI MICRORGANISMI, denominazione

H. ANNOTAZIONI SPECIALI



DOCUMENTAZIONE ALLEGATA

N. es.

Doc. n.	Prov.	N. pag.	Descrizione
Doc. 1)	2	PROV	n. pag. 15 riassunto con disegno principale, descrizione e rivendicazioni (obbligatorio 1 esemplare) .....
Doc. 2)	0	PROV	n. tav. disegno (obbligatorio se citato in descrizione, 1 esemplare) .....
Doc. 3)	0	RIS	lettera d'incarico, procura o riferimento procura generale .....
Doc. 4)	0	RIS	designazione inventore .....
Doc. 5)	0	RIS	documenti di priorità con traduzione in italiano .....
Doc. 6)	0	RIS	autorizzazione o atto di cessione .....
Doc. 7)	0		nominativo completo del richiedente

8) attestati di versamento, totale lire

TRECENTO SESSANTACINQUEMILA

obbligatorio

COMPILATO IL 01 09 1998

FIRMA DEL (I) RICHIEDENTE (I)

*Viviani Viviani*

CONTINUA S/NO NO

DEL PRESENTE ATTO SI RICHIEDE COPIA AUTENTICA S/NO SI

UFFICIO PROVINCIALE IND. COMM. ART. DI

FIRENZE

codice 48

VERBALE DI DEPOSITO

NUMERO DI DOMANDA

FI/98/A/195

Reg. A

L'anno millenovecento

novantotto

il giorno

due

del mese di

settembre

il (i) richiedente (i) sopraindicato (i) ha (hanno) presentato a me sottoscritto la presente domanda, corredate di n.

0 fogli aggiuntivi per la concessione del brevetto sopraportato.

I. ANNOTAZIONI VARIE DELL'UFFICIO ROGANTE

nessuna

IL DEPOSITANTE

*Viviani Viviani*



L'UFFICIALE ROGANTE

*Ug*

## RIASSUNTO INVENZIONE CON DISEGNO PRINCIPALE

NUMERO DOMANDA FI/98/A/195

REG. A

DATA DI DEPOSITO 02/09/1998

NUMERO BREVETTO \_\_\_\_\_

DATA DI RILASCIO \_\_\_\_\_

## A. RICHIEDENTE (I)

Denominazione

VIVIANI VIVIANO

Residenza

Campinas - SAN PAOLO (Brasile) Rua Marina V.C. Mesquita 663

## D. TITOLO

Clonazione di geni (cDNA) che codificano le luciferasi in grado di produrre la bioluminescenza verde del Phixotrix vivianii e la bioluminescenza rossa del Phixotrix hirtus

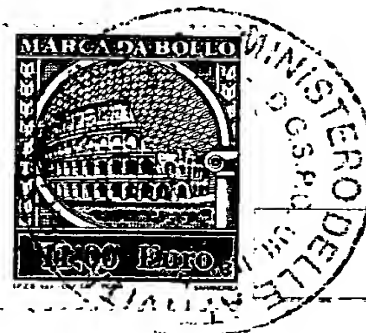
Classe proposta (sez./cl./scl/) \_\_\_\_\_

(gruppo/sottogruppo) \_\_\_\_\_

## L. RIASSUNTO

L'invenzione è costituita dall'ottenimento, via clonazione dei geni (cDNA) che codificano le luciferasi in grado di produrre la bioluminescenza verde del Phixotrix vivianii e la bioluminescenza rossa del Phixotrix hirtus. Di tali geni, vengono rivendicate le relative sequenze.

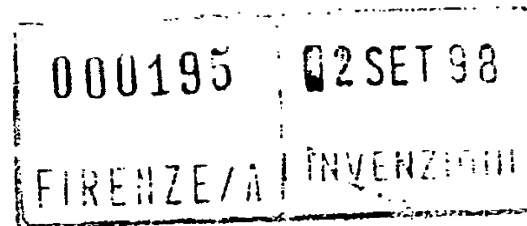
L'invenzione è particolarmente importante perché permette la produzione industriale di tali geni che hanno la peculiarità di individuare facilmente eventuali esistenze di forme virali senza che la luce prodotta venga assorbita da determinati corpi di test biologici colorati diminuendo l'efficienza del test in atto.



UFFICIO PROVINCIALE DELL'INDUSTRIA  
DEL COMMERCIO E DELL'ARTIGIANATO  
FIRENZE  
Ufficio Brevetti  
Il Funzionario

## M. DISEGNO





Descrizione dell'invenzione consistente nella "Clonazione dei geni (cDNA) che codificano le luciferasi in grado di produrre la bioluminescenza verde del Phrixothrix vivianii e la bioluminescenza rossa del Phrixothrix hirtus" a nome di Viviani Viviano, residente a Campinas, stato di São Paulo, Brasile, di nazionalità italiana.

### DESCRIZIONE

Attualmente i geni delle luciferasi di lucciole hanno un'ampia applicazione nel campo della biotecnologia ed in particolare nell'esecuzione dei diagnostici clinici nella veste di "geni reporter" la cui generazione di luciferasi, conseguentemente di luce, serve come segnale per manifestare e quantificare il funzionamento degli elementi regolatori del funzionamento cellulare chiamati "promotori".

Altre applicazioni usano questi geni per diagnosticare e tenere sotto controllo lo sviluppo di infezioni virali in tessuti animali e vegetali o diagnosticare virus in corpi di test biologici. In quest'ultimo caso, un elemento regolatore, isolato dall'eventuale virus in esame, viene connesso, mediante opportune tecniche di ingegneria genetica, al gene della luciferasi. Il sistema connesso viene quindi introdotto all'interno del corpo cellulare o del corpo di prova in stato di diagnosi. Nel caso in cui il corpo di test sia realmente infettato dal virus dal quale è stato isolato l'elemento regolatore, i segnali molecolari risultanti da tale virus attiveranno l'elemento regolatore, il quale, a sua volta, inizierà ad emettere una certa quantità di luciferasi la cui luce confermerà l'infezione che potrà esser in anche quantificata (questo sistema è già stato utilizzato con successo nella diagnosi di esistenza dei virus dell'AIDS).

Nel passato, tutta la gamma di applicazioni sopra citate, fu eseguita unicamente con poche e limitatissime quantità di geni di luciferasi in grado di produrre unicamente luce monocromatica appartenente al settore dello spettro che va dal verde al giallo.



UFFICIO PROVINCIALE DELL'INDUSTRIA  
DEL COMMERCIO E DELL'ARTIGIANATO  
FIRENZE  
Ufficio Brevetti  
Il Funzionario

I geni delle luciferasi verde e rossa appartenenti ai Phrixothrix che abbiamo clonato, offrono un notevole ampliamento del potenziale applicativo.

Per esempio, in determinati corpi di test biologici colorati come il sangue, se si usassero le luciferasi classiche di cui sopra, la loro luce verde verrebbe parzialmente assorbita dall'emoglobina e da altri componenti, diminuendo l'efficienza della prova di test. Viceversa, la luciferasi che produce luce rossa risulta ben più efficiente nella diagnosi.

Un'altra applicazione è rappresentata dall'uso sincronico di due geni produttori differenti colori di luce, al fine di monitorare due promotori (elementi regolatori) allo stesso tempo. Dato che i geni delle luciferasi utilizzate fino al presente momento emettono luce nella regione del verde ed arancione, la loro applicazione concomitante è limitata dal fatto che i relativi spettri d'emissione presentano invariabilmente un considerevole grado di sovrapposizione, creando notevoli difficoltà alla discriminazione relativa al segnale che si cerca di individuare. Una maniera per contornare questo problema è stata proposta dalla Promega Co. (USA), che ha utilizzato una luciferasi di lucciola che emette luce verde ed una luciferasi di un celenterato (medusa marina) che produce luce azzurra. Però, dato che tali luciferasi, derivando da animali differenti, lavorano in condizioni biochimiche distinte, il sistema non presenta sufficiente efficienza.

Viceversa, la ricerca di efficienza risulta ampiamente soddisfatta con l'uso delle luciferasi ottenibili mediante la sequenza oggetto di questa richiesta di brevetto, in quanto sono in grado di produrre la stessa luce verde e rossa del Phrixothrix, costituendo un sistema che lavora nelle stesse condizioni biochimiche e nel quale spettri non presentano sovrapposizione.

Sono oggetto della richiesta di brevetto, due sequenze del DNA originarie dalle specie brasiliane Phrixothrix vivianii e Phrixothrix hirtus, tali che possono codificare le luciferasi responsabili per l'emissione di luce verde e rossa. Le sequenze di per se non sono un'applicazione, ma, con il loro ampio potenziale, sono il primo ed essenziale passo per le applicazioni nei campi di ingegneria genetica e diagnostici clinici.

Le sequenze di cui sopra sono uniche perché finora sono state clonate solo luciferasi che producono luce verde – gialla e ciò attesta la relativa novità.

Oltre alle sequenze nucleotidiche dei cDNA, e le rispettive sequenze di amminoacidi delle proteine ci sono due proprietà che caratterizzano l'attività biologica di queste due proteine che sono la catalisi di produzione della bioluminescenza di colori differenti mediante l'ossidazione dello stesso substrato, la D-luciferina di lucciole [D-2-(6' hydroxi-2'benzothiazolyl) $\Delta^2$ -thiazoline-4-carboxylic acid]:

- (a) luciferasi codificata dal cDNA di Phrixothrix vivianii che produce luce verde (col massimo dello spettro elettromagnetico centrato in  $\lambda_m = 549 \text{ nm}$ )
- (b) luciferasi codificata dal cDNA di Phrixothrix hirtus che produce luce rossa (con massimo in  $\lambda_m = 622 \text{ nm}$ ; novità assoluta, altre luciferasi clonate emettono nella fascia tra 546-593 nm dello spettro).

E' appurato che i cDNA (geni) delle luciferasi, una volta inseriti in un vettore di DNA (virus o plasmideo), ed introdotto dentro le cellule, hanno la proprietà di codificare la produzione di queste ultime (luciferasi).

In questo modo è possibile produrre la luciferasi in cellule di batteri che, facilmente coltivabili in grande scala, vengono poi utilizzate per la purificazione della luciferasi contenuta per fini di commercializzazione di quest'ultima.

Ai fini di produzione, sia di laboratorio come industriale, è *condicio sine qua non* ottenere il DNA della luciferasi isolato (come nel caso citato dei due geni che sono stati isolati) ed inserirlo alla molecola di DNA del vettore che sarà introdotto dentro la cellula.

Questo é un procedimento che attualmente risulta banale per qualsiasi laboratorio di biologia molecolare o industria ad indirizzo biotecnologico. Anche le tecniche di purificazione delle luciferasi sono ampiamente impiegate e non offrono alcuna difficoltà.

Finalmente, per potere ottenere la luminescenza basta aggiungere la luciferina (non luciferasi) che é da tempo risulta esser sintetizzata industrialmente e commercializzata da varie aziende.

I geni di per se non sono nessuna applicazione commerciale, ma una volta applicati in vettori di DNA appropriati (che possono essere plasmidei o DNA di virus modificati attraverso ingegneria genetica), possono essere impiegati nella industrializzazione di kit con fini di studio dell'attività biologica di promotori e elementi genetici regolatori del metabolismo cellulare, e eventualmente di diagnostico clinico, attraverso la luminescenza di differenti colori emessa da queste luciferasi).



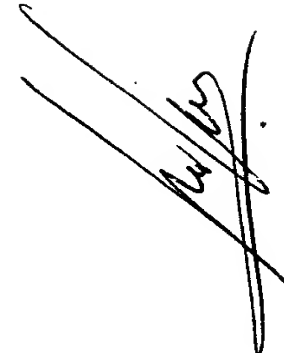
## RIVENDICAZIONI

- 1) - Sequenza nucleotidica del cDNA della luciferasi produttrice di luce verde di Phrixothrix vivianii e deduzione della rispettiva struttura primaria, che qui sotto viene descritta in codice genetico universale.

10	20	30	40	50	60
ATCAAAATGGAAGAAGAAAACATTAGGCATGGAGAGCGTCCTCGTGATATAGTCCATCCT					
MetGluGluGluAsnIleArgHisGlyGluArgProArgAspIleValHisPro					
70	80	90	100	110	120
GGCTCGGCAGGACAACAATTATACCAATCATTGTATAAATTTGCATCTTTTCCTGAAGCA					
GlySerAlaGlyGlnGlnLeuTyrGlnSerLeuTyrLysPheAlaSerPheProGluAla					
130	140	150	160	170	180
ATAATCGATGCTCATACAAATGAAGTAATATCATATGCTCAAATATTTGAAACCAGCTGC					
IleIleAspAlaHisThrAsnGluValIleSerTyrAlaGlnIlePheGluThrSerCys					
190	200	210	220	230	240
CGCTTAGCTGTTAGTATAGAACAATATGGCTTGAATGAAAACAATGTTGTGGGTGTATGC					
ArgLeuAlaValSerIleGluGlnTyrGlyLeuAsnGluAsnAsnValValGlyValCys					
250	260	270	280	290	300
AGTGAAAACAATATAAACTTTTTTAATCCTGTCCTTGCTGCTTTATACTTAGGAATACCA					
SerGluAsnAsnIleAsnPhePheAsnProValLeuAlaAlaLeuTyrLeuGlyIlePro					



310	320	330	340	350	360
GTAGCAACATCAAATGATATGTACACAGATGGAGAGTTAACTGGTCATTTGAATATATCA					
ValAlaThrSerAsnAspMetTyrThrAspGlyGluLeuThrGlyHisLeuAsnIleSer					
370	380	390	400	410	420
AAACCAACTATCATGTTTAGTTCAAAGAAAGCACTCCCGCTTATTCTGAGAGTACAGCAA					
LysProThrIleMetPheSerSerLysLysAlaLeuProLeuIleLeuArgValGlnGln					
430	440	450	460	470	480
AATCTAAGTTTCATTAAAAAAGTCGTAGTTATCGATAGCATGTACGACATTAATGGCGTT					
AsnLeuSerPheIleLysLysValValValIleAspSerMetTyrAspIleAsnGlyVal					
490	500	510	520	530	540
GAATGCGTATCTACCTTTGTTGCACGTTATACTGACCACACCTTTGATCCATTGTCATTT					
GluCysValSerThrPheValAlaArgTyrThrAspHisThrPheAspProLeuSerPhe					
550	560	570	580	590	600
ACACCAAAGATTTTGATCCCCTTGAAAAAATCGCATTAAATTATGTCATCATCTGGAACA					
ThrProLysAspPheAspProLeuGluLysIleAlaLeuIleMetSerSerSerGlyThr					
610	620	630	640	650	660
ACTGGATTGCCTAAGGGTGTAGTACTGAGCCATAGAAGTCTAACTATAAGATTCGTTTCAT					
ThrGlyLeuProLysGlyValValLeuSerHisArgSerLeuThrIleArgPheValHis					
670	680	690	700	710	720



AGCAGGGATCCCATTTATGGCACTCGTACGGTTCCACAAACATCAATTCTTTCCTTAGTA

SerArgAspProIleTyrGlyThrArgThrValProGlnThrSerIleLeuSerLeuVal

730 740 750 760 770 780

CCGTTCCATCATGCCTTTGGAATGTTTACTACATTATCTTACTTTGTAGTAGGACTTAAG

ProPheHisHisAlaPheGlyMetPheThrThrLeuSerTyrPheValValGlyLeuLys

790 800 810 820 830 840

GTTGTAATGTTGAAGAAATTTGAGGGCGCACTTTTCTTAAAAACCATACAGAATTACAAA

ValValMetLeuLysLysPheGluGlyAlaLeuPheLeuLysThrIleGlnAsnTyrLys

850 860 870 880 890 900

ATCCCCACTATTGTAGTGGCCCCCTCCAGTTATGGTGTTTTTGGCTAAAAGCCCATTAGTC

IleProThrIleValValAlaProProValMetValPheLeuAlaLysSerProLeuVal

910 920 930 940 950 960

GATCAATACGATTTATCGAGCTTAACGGAAGTTGCTACTGGAGGAGCTCCTTTAGGAAAA

AspGlnTyrAspLeuSerSerLeuThrGluValAlaThrGlyGlyAlaProLeuGlyLys

970 980 990 1000 1010 1020

GATGTCGCAGAAGCAGTAGCAAAGAGGTTGAAATTACCTGGAATCATACAAGGATATGGA

AspValAlaGluAlaValAlaLysArgLeuLysLeuProGlyIleIleGlnGlyTyrGly

1030 1040 1050 1060 1070 1080

TTAACTGAAACTTGCTGCGCTGTAATGATTACCCCTCATAATGCTGTGAANACAGGTTCA

LeuThrGluThrCysCysAlaValMetIleThrProHisAsnAlaVal ThrGlySer

1090 1100 1110 1120 1130 1140

ACTGGAAGACCCTTGCCATACATTAAAGCTAAAGTTTTAGATAACGCTACTGGGAAGGCG

ThrGlyArgProLeuProTyrIleLysAlaLysValLeuAspAsnAlaThrGlyLysAla

1150 1160 1170 1180 1190 1200

CTAGGACCAGGAGAAAGAGGCGAAATATGCTTTCAAAGTGAAATGATTATGAAAGGATAT

LeuGlyProGlyGluArgGlyGluIleCysPheGlnSerGluMetIleMetLysGlyTyr

1210 1220 1230 1240 1250 1260

TACAACAATCCGGAAGCAACTATTGATACTATTGACAAAGATGGTTGGCTTCATTCTGGA

TyrAsnAsnProGluAlaThrIleAspThrIleAspLysAspGlyTrpLeuHisSerGly

1270 1280 1290 1300 1310 1320

GATATTGGATATTACGACGAAGATGGAAATTTCTTTATAGTTGATCGATTGAAAGAACTT

AspIleGlyTyrTyrAspGluAspGlyAsnPhePheIleValAspArgLeuLysGluLeu

1330 1340 1350 1360 1370 1380

ATTAAATACAAGGGATATCAGGTTGCGCCTGCTGAACTGGAAAATCTGCTTTTACAACAT

IleLysTyrLysGlyTyrGlnValAlaProAlaGluLeuGluAsnLeuLeuLeuGlnHis

1390 1400 1410 1420 1430 1440

CCAAGTATTGCTGATGCGGGTGTTACTGGAGTTCCGGACGAATTTGGTGGACAATTACCT

ProSerIleAlaAspAlaGlyValThrGlyValProAspGluPheGlyGlyGlnLeuPro



1450 1460 1470 1480 1490 1500  
GCTGCTTGTGTTGTGTTAGAATCTGGCAAGACGCTGACTGAAAAGGAAGTTCAAGATTTT  
AlaAlaCysValValLeuGluSerGlyLysThrLeuThrGluLysGluValGlnAspPhe

1510 1520 1530 1540 1550 1560  
ATTGCAGCACAAGTCACTCCAACAAAGCATCTTCGAGGCGGTGTCGTATTTGTAGACAGT  
IleAlaAlaGlnValThrProThrLysHisLeuArgGlyGlyValValPheValAspSer

1570 1580 1590 1600 1610 1620  
ATTCCGAAAGGCCCTACTGGAAACTCATCAGAAAGGAGCTCCGAGAAATATTTGCCCAG  
IleProLysGlyProThrGlyLysLeuIleArgLysGluLeuArgGluIlePheAlaGln

1630 1640 1650 1660 1670 1680  
CGAGCACCAAATCAAATTATAAGTTCAATGTATTGCTTTAGTTCTAAAATGTATATAA  
ArgAlaProLysSerLysLeu\*\*\*

1690 1700 1710 1720 1730 1740  
ACAAGTTTTAGAACCTAATACATTCATTCAAATACTAAACAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

1750  
AAAAAA

2) -Sequenza nucleotidica del cDNA della luciferasi produttrice di luce verde di Phrixothrix hirtus e deduzione della rispettiva struttura primaria, che qui sotto viene descritta in codice genetico universale.

GTGACAGTTTAGTTTCAGTAGAAGATTTTTTTTGAGATCAAA

10	20	30	40	50	60
ATGGAAGAAGAAAACGTTGTGAATGGAGATCGTCCTCGTGATCTAGTTTTTCCTGGCACA					
MetGluGluGluAsnValValAsnGlyAspArgProArgAspLeuValPheProGlyThr					

70	80	90	100	110	120
GCAGGACTACAATTATATCAATCATTATATAAATATTCATATATTACTGACGGAATAATC					
AlaGlyLeuGlnLeuTyrGlnSerLeuTyrLysTyrSerTyrIleThrAspGlyIleIle					

130	140	150	160	170	180
GATGCCCATAACCAATGAAGTAATATCATATGCTCAAATATTTGAAACCAGCTGCCGCTTG					
AspAlaHisThrAsnGluValIleSerTyrAlaGlnIlePheGluThrSerCysArgLeu					

190	200	210	220	230	240
GCAGTTAGTCTAGAAAAATATGGCTTGGATCATAACAATGTTGTGGCAATATGCAGTGAA					
AlaValSerLeuGluLysTyrGlyLeuAspHisAsnAsnValValAlaIleCysSerGlu					

250	260	270	280	290	300
AACAAACATACACTTTTTTGGCCCTTTAATTGCTGCTTTATACCAAGGAATACCAATGGCA					
AsnAsnIleHisPhePheGlyProLeuIleAlaAlaLeuTyrGlnGlyIleProMetAla					

310	320	330	340	350	360
ACATCAAATGATATGTACACAGAAAGGGAGATGATTGGCCATTTGAATATATCGAAACCA					
ThrSerAsnAspMetTyrThrGluArgGluMetIleGlyHisLeuAsnIleSerLysPro					
370	380	390	400	410	420
TGCCTTATGTTTTGTTCAAAGAAATCACTCCCATTATTATTATGGGAGTACAAAACATCTA					
CysLeuMetPheCysSerLysLysSerLeuProPheIleMetGlyValGlnLysHisLeu					
430	440	450	460	470	480
GATTCCTTAAAAGAGTCATAGTCATTGATAGTATGTACGATATCAATGGCGTTGAATGC					
AspPheLeuLysArgValIleValIleAspSerMetTyrAspIleAsnGlyValGluCys					
490	500	510	520	530	540
GTATTTAGCTTTGATTCACGTAATACTGATCACGCCTTTGATCCAGTGATATTTAACCCA					
ValPheSerPheAspSerArgAsnThrAspHisAlaPheAspProValIlePheAsnPro					
550	560	570	580	590	600
AAAGAGTTTGATCCCTTGGAAAGAACCGCATTAATTATGACATCATCTGGAACAACCTGGA					
LysGluPheAspProLeuGluArgThrAlaLeuIleMetThrSerSerGlyThrThrGly					
610	620	630	640	650	660
TTGCCTAAAGGGGTAGTAATAAGCCATAGAAGTATAACTATAAGCTTCGTCCATAGCAGT					
LeuProLysGlyValValIleSerHisArgSerIleThrIleSerPheValHisSerSer					
670	680	690	700	710	720



GATCCCATCTATGGTACTCGTATTGCTCCAGATACATCAATTCTTGCTATAGCACCGTTC

AspProIleTyrGlyThrArgIleAlaProAspThrSerIleLeuAlaIleAlaProPhe

730 740 750 760 770 780

CATCATGCCTTTGGACTGTTTACTGCACTAGCTTACTTTCCAGTAGGACTTAAGATTGTA

HisHisAlaPheGlyLeuPheThrAlaLeuAlaTyrPheProValGlyLeuLysIleVal

790 800 810 820 830 840

ATGGTGAAGAAATTTGAGGGCGAATTCTTCTTAAAAACCATACAAAATTACAAAATCGCT

MetValLysLysPheGluGlyGluPhePheLeuLysThrIleGlnAsnTyrLysIleAla

850 860 870 880 890 900

TCTATTGTAGTTCCTCCTCCAATTATGGTATATTTGGCTAAAAGTCCATTAGTCGATGAA

SerIleValValProProProIleMetValTyrLeuAlaLysSerProLeuValAspGlu

910 920 930 940 950 960

TACAATTGCTCGAGCTTAACGGAAATTGCTAGTGGAGGCTCTCCTTTAGGAAGAGATATC

TyrAsnCysSerSerLeuThrGluIleAlaSerGlyGlySerProLeuGlyArgAspIle

970 980 990 1000 1010 1020

GCAGATAAAGTAGCAAAGAGATTGAAAGTACATGGAATCCTACAAGGATATGGATTAACC

AlaAspLysValAlaLysArgLeuLysValHisGlyIleLeuGlnGlyTyrGlyLeuThr

1030 1040 1050 1060 1070 1080

GAAACCTGCAGCGCTCTAATACTTAGCCCCAATGATCGAGAACTTAAAAAAGGTGCAATT

GluThrCysSerAlaLeuIleLeuSerProAsnAspArgGluLeuLysLysGlyAlaIle

1090 1100 1110 1120 1130 1140

GGAACGCCTATGCCATATGTTCAAGTTAAAGTTATAGATATCAATACTGGGAAGGCGCTA

GlyThrProMetProTyrValGlnValLysValIleAspIleAsnThrGlyLysAlaLeu

1150 1160 1170 1180 1190 1200

GGACCAAGAGAAAAAGGCGAAATATGCTTCAAAGTCAAATGCTTATGAAAGGATATCAC

GlyProArgGluLysGlyGluIleCysPheLysSerGlnMetLeuMetLysGlyTyrHis

1210 1220 1230 1240 1250 1260

AACAATCCGCAAGCAACTCGTGATGCTCTTGACAAAGATGGTTGGCTTCATACTGGGGAT

AsnAsnProGlnAlaThrArgAspAlaLeuAspLysAspGlyTrpLeuHisThrGlyAsp

1270 1280 1290 1300 1310 1320

CTTGGATATTACGACGAAGACAGATTTATCTATGTAGTTGATCGATTGAAAGAACTTATT

LeuGlyTyrTyrAspGluAspArgPheIleTyrValValAspArgLeuLysGluLeuIle

1330 1340 1350 1360 1370 1380

AAATATAAAGGATATCAGGTTGCGCCTGCTGAACTGGAAAATCTGCTTTTACAACATCCA

LysTyrLysGlyTyrGlnValAlaProAlaGluLeuGluAsnLeuLeuLeuGlnHisPro

1390 1400 1410 1420 1430 1440

AATATTTCTGATGCGGGTGTATTGAATTCCGGACGAATTTGCTGGTCAATTACCTTTCC

AsnIleSerAspAlaGlyValIleGluPheArgThrAsnLeuLeuValAsnTyrLeuSer



1450	1460	1470	1480	1490	1500
GCGTGTGTTGTGTTAGAGCCTGGTAAGACAATGACCGAAAAGGAAGTTCAGGATTATATT					
AlaCysValValLeuGluProGlyLysThrMetThrGluLysGluValGlnAspTyrIle					
1510	1520	1530	1540	1550	1560
GCAGAGCTAGTCACTACAACATACTTCGAGGCGGTGTCGTATTTATAGATAGTATT					
AlaGluLeuValThrThrThrLysHisLeuArgGlyGlyValValPheIleAspSerIle					
1570	1580	1590	1600	1610	1620
CCAAAAGGCCCAACAGGAAACTCATGAGAAACGAACTCCGAGCAATATTTGCCCGGGAA					
ProLysGlyProThrGlyLysLeuMetArgAsnGluLeuArgAlaIlePheAlaArgGlu					
1630	1640	1650	1660	1670	1680
CAGGCAAATCAAATTTAAGCTCAATATATTGCTTTAGTTATAAAATGTATGTAATCA					
GlnAlaLysSerLysLeu***					
1690	1700	1710	1720		
AATTTTAGAACCTAATACATTCATTGAGAGCCTAAAAAA					

3) - Applicazione dell'uso sincronico di due geni delle luciferasi ottenibili mediante le sequenze di cui ai precedenti punti 1) e 2) in quanto, producendo la stessa luce verde e rossa del Phrixothrix, costituiscono un sistema che lavora nelle stesse condizioni biochimiche e nel quale spettri non presentano sovrapposizione, così che è possibile monitorare due promotori (elementi regolatori) allo stesso tempo.

*[Handwritten signature]*

*[Handwritten signature]*



UFFICIO PROVINCIALE DELL'INDUSTRIA  
DEL COMMERCIO E DELL'ARTIGIANATO  
FIRENZE  
Ufficio Brevetti  
Il Funzionario